

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan, Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang yang dimulai pada bulan Februari hingga bulan Juli 2019.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (*Ohaus Pioneer PA214*), *tekstur analyzer* (TPA EZ test model SM-500N-168) merk Shimadzu. , *magnetic stirrer* (Cimarec Thermo), blender, saringan, plastik PP, penggaris, gunting, *hot plate* , *spektrofotometer* tipe UV-1800 merk Shimadzu, desikator merk Glaswerk Wertheim 6132, Oven, karet, baskom, kompor, wajan, pengaduk kayu, pisau, loyang ukuran (20 x 20), plat kaca, spatula kaca, gelas ukur, *beaker glass* (Pyrex), mikrometer sekrup (MDC 25M- Mitutoyo, MFG, Japan), desikator, cawan petri, inkubator (Incucell), cabinet draying, *laminar air flow*, *vortex* (Maxi Mix II M37610-33), *colony counter* (Today's Galaxy 230), rak tabung reaksi, pipet ukur, pembakar bursen, bola hisap, plastik wrap, statif, termometer, cawan porselen, toples kaca, *autoclave* (Allamamerica 1925x), sarung tangan (Sensi glove), dan tabung reaksi, erlenmeyer 100mL (Schott Duran).

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada proses pembuatan dan aplikasi *edible film* adalah kolang-kaling (gambar 1b) yang diperoleh dari pasar Landungsari Malang, aquades, sorbitol teknis, CMC (*Carboxy methyl cellulose*), NAOH dan

silica gel dari toko DJ lab Malang, garam, tepung ketan, tepung beras, minyak goreng, gula pasir (PG) di dapatkan dari Pasar Landungsari Malang,.

3.3 Rancangan Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan 2 tahap. Tahap pertama yaitu proses pembuatan *edible film* menggunakan RAK (Rancangan Acak Kelompok) dengan 2 faktor dan 3 ulangan dan tahap kedua yaitu aplikasi *edible film* terbaik (Tahap Pertama) berdasarkan sifat fisik, mekanik, dan *barrier*. Analisa *edible film* faktor pertama yang ditambahkan yaitu konsentrasi CMC yang terdiri dari tiga level, dan faktor kedua yaitu konsentrasi sorbitol juga terdiri dari tiga level. Faktor I konsentrasi CMC (b/b)

C1 : Konsentrasi CMC 0,5 %

C2 : Konsentrasi CMC 1,0 %

C3 : Konsentrasi CMC 1,5 %

Factor II konsentrasi sorbitol (v/v)

S1 : Konsentrasi sorbitol 1 %

S2 : Konsentrasi sorbitol 2 %

S3 : Konsentrasi sorbitol 3 %

Kombinasi perlakuan dari kedua faktor yaitu 9 perlakuan. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Analysis of Variant (ANOVA) dan dilanjutkan uji banding DMRT (Duncan's Multiple Range Test) dengan taraf nyata 5% ($\alpha=0,05$).

Tabel 3. Tabel Kombinasi Perlakuan Konsentrasi CMC dan Konsentrasi Sorbitol

C/S	S1	S2	S3
C1	C1S1	C1S2	C1S3
C2	C2S1	C2S2	C2S2
C3	C3S1	C3S2	C3S3

Keterangan:

1. C1S1 = Konsentrasi CMC 0,5% dengan penambahan sorbitol 1%
2. C1S2 = Konsentrasi CMC 0,5% dengan penambahan sorbitol 2%
3. C1S3 = Konsentrasi CMC 0,5% dengan penambahan sorbitol 3%
4. C2S1 = Konsentrasi CMC 1,0% dengan penambahan sorbitol 1%
5. C2S2 = Konsentrasi CMC 1,0% dengan penambahan sorbitol 2%
6. C2S3 = Konsentrasi CMC 1,0% dengan penambahan sorbitol 3%
7. C3S1 = Konsentrasi CMC 1,5% dengan penambahan sorbitol 1%
8. C3S2 = Konsentrasi CMC 1,5% dengan penambahan sorbitol 2%
9. C3S3 = Konsentrasi CMC 1,5% dengan penambahan sorbitol 3%

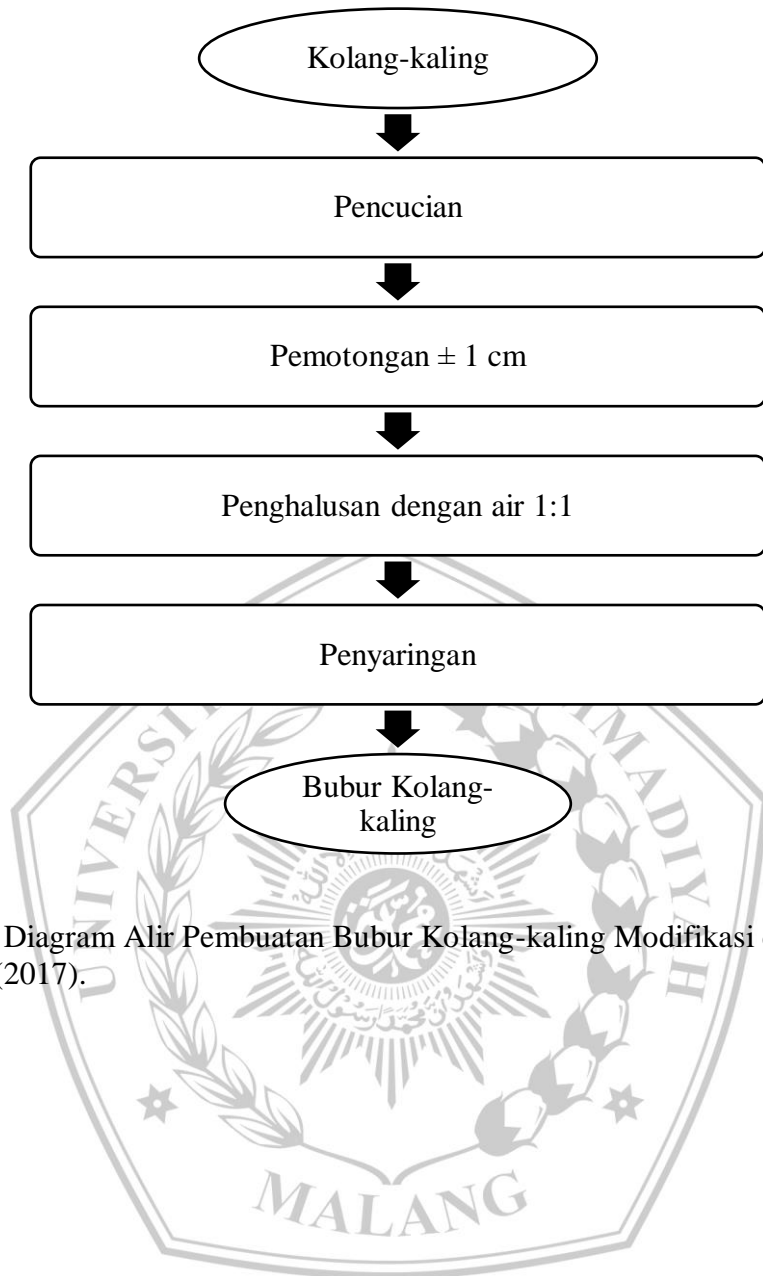
Tahap kedua yaitu aplikasi perlakuan terbaik edible film pada tahap 1. Perlakuan yang digunakan yaitu adanya pelapisan *edible film* dengan nilai terbaik berdasarkan analisa fisik dan mekanik *edible film* yang mengacu pada JIS (1975). Selanjutnya, dodol dengan pelapis *edible film* tersebut disimpan dan diamati selama penyimpanan dengan periode hari ke-0, hari ke-2, hari ke-4, dan hari ke-6 hari.

3.4 Prosedur Penelitian

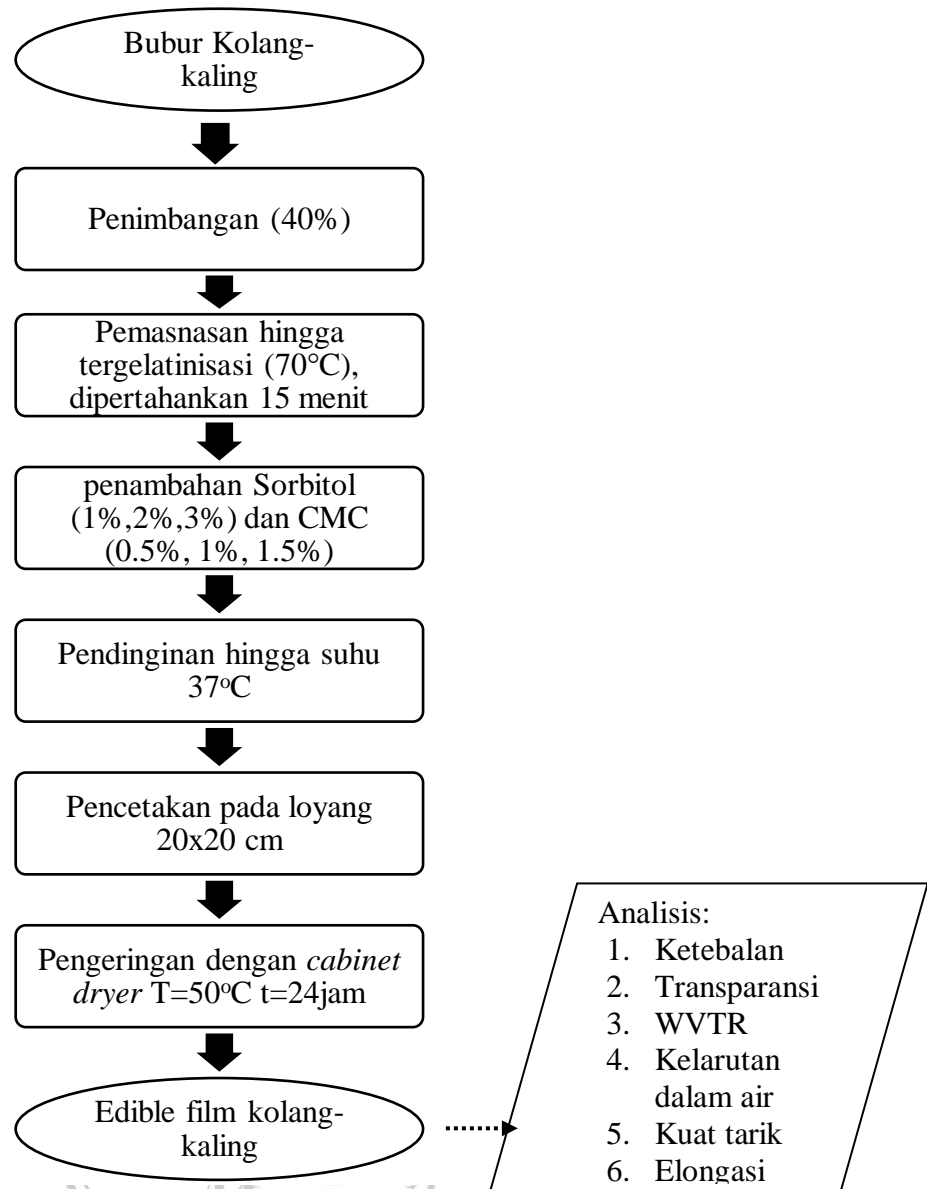
Penelitian dilaksanakan melalui dua proses, proses pertama yaitu pembuatan bubur kolang kaling. Proses kedua, proses pembuatan *edibel film* dengan kombinasi perlakuan konsentrasi CMC dan Sorbitol yang berbeda. *Edibel film* tersebut selanjutnya dianalisa mulai dari uji ketebalan, uji kelarutan dalam air, uji transparansi, laju transmisi uap air (WVTR), uji kuat tarik dan uji elongasi.

3.4.1 Pembuatan *Edible film* Kolang-kaling

Proses pembuatan *edible film* kolang kaling yaitu kolang-kaling yang diperoleh dari pasar Landungsari dibersihkan dan dicuci dari kotoran serta benda asing yang menempel. Kolang-kaling dipotong dengan ukuran 0,5 sampai 1 cm untuk mempermudah proses penghancuran. Kolang-kaling dihaluskan menggunakan blender dengan perbandingan 1:1. Bubur kolang-kaling yang terbentuk disaring dengan saringan 60 mesh untuk memisahkan antara yang telah hancur dengan yang masih memiliki ukuran besar. Bubur kolang-kaling dilakukan penimbangan dengan konsentrasi 40% selanjutnya ditambahkan aquades sampai volume 200 ml dan diaduk sampai terbentuk suspensi larutan. Larutan dipindahkan ke dalam *beaker glass* 250 ml dipanaskan di atas *hotplate* dan diaduk yang dikondisikan pada suhu $70\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 15 menit. Setelah terbentuk larutan gel kemudian ditambahkan *plasticizer* sorbitol dengan konsentrasi (1%, 2% dan 3%) ml (v/v) sesuai perlakuan dan CMC dengan konsentrasi (0,5%, 1%, dan 1,5%) b/b sesuai perlakuan dipanaskan diatas *hotplate* dan diaduk serta dikondisikan pada suhu $70\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 15 menit, kemudian suspensi hasil pemanasan didinginkan hingga suhu 37°C dan dituangkan ke plat kaca dengan ukuran 20cm x 20cm dan dikeringkan dalam *cabinet dryer* dengan suhu 50°C selama 24 jam. Setelah *edible film* kering selanjutnya didinginkan pada suhu ruang selama 15 menit agar *edible film* mudah dilepas dari cetakan. *edible film* siap dilakukan analisis.



Gambar 6. Diagram Alir Pembuatan Bubur Kolang-kaling Modifikasi dari Johan (2017).

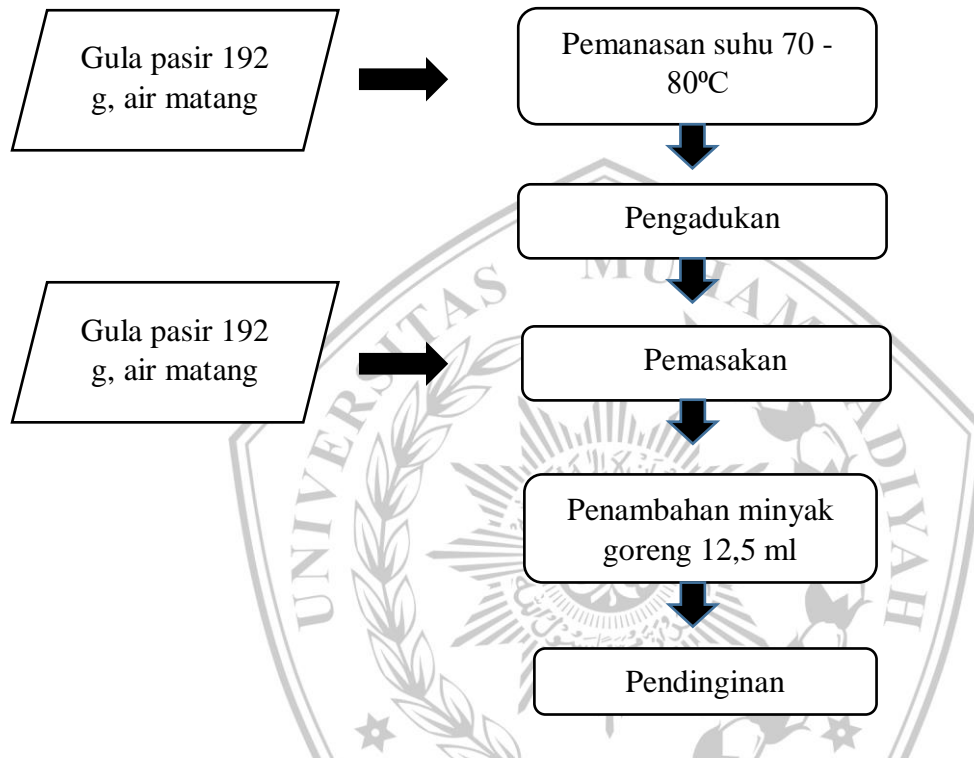


Gambar 7. Diagram Alir Pembuatan *Edible Film* Kolang-kaling (modifikasi Amaliya, 2014)

3.4.2 Tahapan Pembuatan Dodol Ketan

Proses pembuatan dodol tepung ketan diawali dengan menyiapkan bahan-bahan penting untuk membuat dodol. Langkah pembuatan dodol yaitu memasukan gula pasir 192 g tambahkan air mantang secukupnya di aduk sampai gula tercampur rata menggunakan api kecil (70-80°C). Memasukan tepung beras 31 g, tepung ketan 37 g, santan kental 12,5 ml dan garam secukupnya. Mengaduk adonan tersebut

sampai rata dan proses pengadukan dilakukan sampai menjadi dodol selama ± 1 jam. Ketika adonan sudah kalis tambahkan minyak goreng 12,5 ml yang berfungsi untuk glassing pada dodol. Siapkan nampan berserta alasnya. Masukkan dodol tersebut kedalam nampan, tutup. Diamkan dodol selama ± 6 jam sampai dingin (Satuhu, 2007).



Gambar 8. Diagram Alir Pembuatan Dodol Tepung Ketan (Satuhu, 2007).

3.4.3 Aplikasi Edible Film Terbaik pada Dodol tepung ketan

Penerapan *edible film* dengan perlakuan terbaik berdasarkan analisa fisik maupun mekanis pada dodol. Dodol di potong dengan ukuran ± 5 cm selanjutnya dibungkus dengan menggunakan *edible film* ukuran 20 x 20 cm dan diletakan pada loyang dan dilakukan penyimpanan selama 1 minggu pada suhu ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) dan dengan periode hari ke 0, 2, 4 dan ke 6.

3.5 Parameter Pengamatan

Pengamatan uji bahan baku dilakukan pada kolang-kaling yang telah dikeringkan. Parameter pengamatan yang dilakukan ialah kadar air, pati, amilosa dan amilopektin. Pengamatan pada mutu *edible film* yang dilakukan pada penelitian karakteristik fisik, mekanik dan *barrier edible film* kolang – kaling (*Arenga pinnata*) dengan penambahan CMC (*carboxy methyl cellulose*) dan sorbitol yang diaplikasikan pada dodol tepung ketan yaitu ketebalan, transparansi, WVTR, kelarutan dalam air, elongasi dan kuat tarik. Satu sampel kolang-kaling terbaik berdasarkan sifat fisik, mekanik dan *barrier* dan mengacu pada JIS (1975) diaplikasikan pada dodol tepung ketan kemudian dilihat mutu dodol berdasarkan parameter kadar air, susut bobot, dan TPC (*total plate count*) untuk melihat perbandingan dengan dodol yang tidak dilapisi *edible film*.

3.5.1 Analisa Bahan Baku

Kolang-kaling yang dibeli dari pasar Landungsari akan dikeringkan dan dianalisis kadar air, pati dan amilosa.

3.5.1.1 Uji Kadar Air (Sudarmadji dkk., 2003)

1. Sampel sebanyak 2 gram ditimbang dalam botol timbang yang sudah diketahui bobotnya.
2. Sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 3-5 jam.
3. Sampel didinginkan lagi dalam oven selama 30 menit dan mendinginkan dalam desikator dan menimbang sampai berat konstan.
4. Perhitungan dilakukan dengan rumus.

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Berat awal}-\text{Berat akhir}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

3.5.1.2 Uji Kadar Pati Metode Hidrolisis Asam (AOAC, 2005) dilanjutkan metode Nelson Somogyi (Sudarmadji dkk.,2003)

1. Sampel ditimbang sebanyak 2-5 gram.
2. Sampel ditambahkan 50 ml aquades dan diaduk selama 1 jam.
3. Suspensi disaring dengan kertas saring dan dicuci dengan aquades sampai volume filtrat 250 ml.
4. Residu dipindahkan dari kertas saring ke dalam erlenmeyer dengan pencucian 200 ml aquades dan menambahkan 20 ml HCl \pm 25%.
5. Erlenmeyer diletakkan dipendingin balik dan memanaskan selama 2,5 jam.
6. Setelah dingin, dinetralkan dengan larutan NaOH 45% dan diencerkan sampai volume 500 ml, kemudian disaring.
7. Kadar gula ditentukan yang dinyatakan sebagai glukosa dari filtrat yang diperoleh. Penentuan glukosa seperti pada penentuan gula reduksi. Berat pati adalah berat glukosa dikalikan 0,9.

3.5.1.3 Uji Kadar Amilosa (AOAC, 2005)

1. Pati sebanyak 100 mg dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml kemudian ditambahkan etanol 95% dan 9 ml NaOH 1 N.
2. Larutan dibiarkan selama 23 jam pada suhu kamar atau dipanaskan dalam penangas air suhu 100°C selama 10 menit dan didinginkan selama 1 jam.
3. Larutan kemudian diencerkan dengan aquades menjadi 100 ml, dipipet sebanyak 5 ml, dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml yang berisi 60 ml air.
4. Larutan dalam labu ukur ditambahkan 1 ml asam asetat 1N dan 2 ml I₂ 2% dan diencerkan sampai volume 100 ml.

5. Larutan dikocok dan didiamkan selama 20 menit, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 620 nm. Kadar amilosa dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar amilosa (\%)} = \frac{A_{620} \times f_k \times 100}{100 - k.a} \times 100\%$$

$$\text{Dimana } f_k = \frac{1 \text{ abs}}{1 \text{ ppm}} \times \frac{1000 \times 20}{1000000}$$

3.5.2 Uji Fisik *Edible film*

Uji fisik edible film terdiri dari uji ketebalan edible film, kelarutan dalam air, dan transparansi.

3.5.2.1 Ketebalan (ASTM D6988-03, 2003)

1. Ketebalan film diukur dengan instrument mikrometer sekrup, ketelitian 0,001 mm.
2. Mikrometer diletakkan pada meja yang padat dan bersih dari kotoran.
3. Mikrometer diatur pada titik nol kemudian kaki pengepres diturunkan pada sampel.
4. Kaki pengepres diangkat sedikit kemudian dipindahkan dari lokasi pengukuran pertama.
5. Pengukuran diulangi pada lima tempat yang berbeda.
6. Nilai ketebalan *Edible film* adalah rata-rata hasil dari kelima tempat pengukuran tersebut.

3.5.2.2 Kelarutan dalam Air (Sabeti dkk., 2015)

1. Pengujian dilakukan dengan cara memotong sample segitiga ukuran 1 cm x 1 cm.
2. Sampel kemudian ditimbang berat awal yang akan diuji (W_0), dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi aquades 15 ml selama 10 menit.
3. Sampel yang telah direndam kemudian diangkat dan dilap dengan tisu kertas.

4. Sampel dikeringkan menggunakan oven selama 24 jam.
5. Sampel lalu dilakukan penimbangan berat akhir sampel (W_1), sehingga diperoleh presentase air yang terserap.
6. Presentase kelarutan dari film dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$(\%) = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100\%$$

Keterangan:

W_i : Berat awal

W_f : Berat akhir

3.5.2.3 Transparansi (BAO, Xu dan Wang, 2009)

1. *Edible film* dipotong dengan ukuran 1 cm x 4 cm.
2. *Edible film* kemudian diukur ketebalannya dan dicatat.
3. *Edible film* dimasukkan pada kuvet kaca.
4. Transparansi (T) *edible film* diukur dengan menggunakan spectrophotometer pada panjang gelombang (λ) 546 nm.
5. Nilai transparansi dihitung dengan rumus:

$$T = \frac{A}{X}$$

Keterangan:

T : Transparansi

A : Absorbansi (nm)

X : Ketebalan (mm)

3.5.3 Uji Mekanik *Edible film*

Uji mekanik edible film pada penelitian ini terdiri dari uji kuat tarik dan elongasi.

3.5.3.1 Kekuatan Tarik (Tensile Strength) (Rahayu, 2016)

1. *Edible film* dipotong dengan ukuran 20 mm x 50 mm.
2. Kuat tarik *Edible film* diuji dengan *Universal Testing Machine*.
3. Nilai kekuatan tarik dibaca setelah penarikan sampel dengan persamaan sebagai berikut:

$$t = \frac{F \max}{A}$$

Keterangan:

t : Kuatan tarik

F : Gaya kuatan tarik

A : Luas penampang (mm²)

3.5.3.2 Analisis Elongasi (Kemuluran) (ASTM D882-12, 2002)

1. *Edible film* dipotong dengan ukuran 20 mm x 50 mm.
2. Elongasi *edible film* diuji dengan *Universal Testing Machine*.
3. Elongasi atau kemuluran adalah kemampuan rentang *Edible film* yang dihasilkan. Kemuluran dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Elongasi (\%)} = \frac{\text{Perpanjangan Edible Film}}{\text{Panjang Awal Edible Film}}$$

3.5.4 Uji Barrier *Edible film*

Uji mekanik edible film pada penelitian ini terdiri dari WVTR (*water vapor transmission rate*).

3.5.4.1 Laju transmisi uap air (water vapor transmission rate/WVTR) (ASTM E96/E96M-16, 2016)

1. *Edible film* dipotong dengan ukuran 70 mm x 70 mm.
2. Film dipasang pada cawan yang berisi 2 g silica gel.
3. Bagian tepu cawan dan film ditutup dengan wax, karet atau selotip.

4. Penimbangan cawan dan film kemudian dimasukkan kedalam toples kaca berisi 100 mL larutan NaCl 40% (RH = 75%) pada suhu 25°C.
5. Kemudian toples ditutup rapat. Setiap hari cawan ditimbang dan diamati selama 24 jam.
6. Data yang diperoleh dibuat persamaan regresi linier, sehingga diperoleh slope kenaikan berat cawan (g/hari) dibagi dengan luas permukaan film yang diuji (m²).

$$WVTR = \frac{m}{A.t}$$

Keterangan:

WVTR : Water Vapor Transmission Rate (g.nm/m² day)

m : Masa uap air yang melewati bahan (g)

A : Luas area bahan yang dilewati air (m²)

t : Waktu (jam)

3.5.5 Aplikasi Edible Flim Terbaik Pada Dodol Tepung Ketan

Dodol yang telah dilapisi dengan *Edible film* kemudian dimasukkan dalam wadah setelah itu dilakukan penyimpanan. Penyimpanan dodol dilakukan selama 1 minggu pada suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Pada hari ke 0, 2, 4, dan hari ke 6, dilakukan pengujian terhadap parameter-parameter fisik maupun kimia untuk mengetahui kualitas dodol tepung ketan, yaitu dengan uji kadar air, susut bobot dan TPC.

3.5.5.1 Analisa Kadar Air dengan Metode Gravimetri (Sudarmadji, 2003)

Sampel sejumlah 3-5 g di timbang dan dimasukan dalam cawan yang telah dikeringkan dan diketahui bobotnya. Sampel dan cawan kemudian dikeringkan dalam oven bersuhu 105°C selama 6 jam. Cawan didinginkan dan ditimbang,

kemudian dikeringkan kembali sampai diperoleh bobot tetap. Kadar air sampel dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar air(\%)} = \frac{a - (b - c)}{a}$$

Keterangan

a = berat sampel (g)

b = berat sampel akhir dan cawan (g)

c = berat cawan (g)

3.5.5.2 Total Plate Count (Lukman dan Purnawarman, 2009)

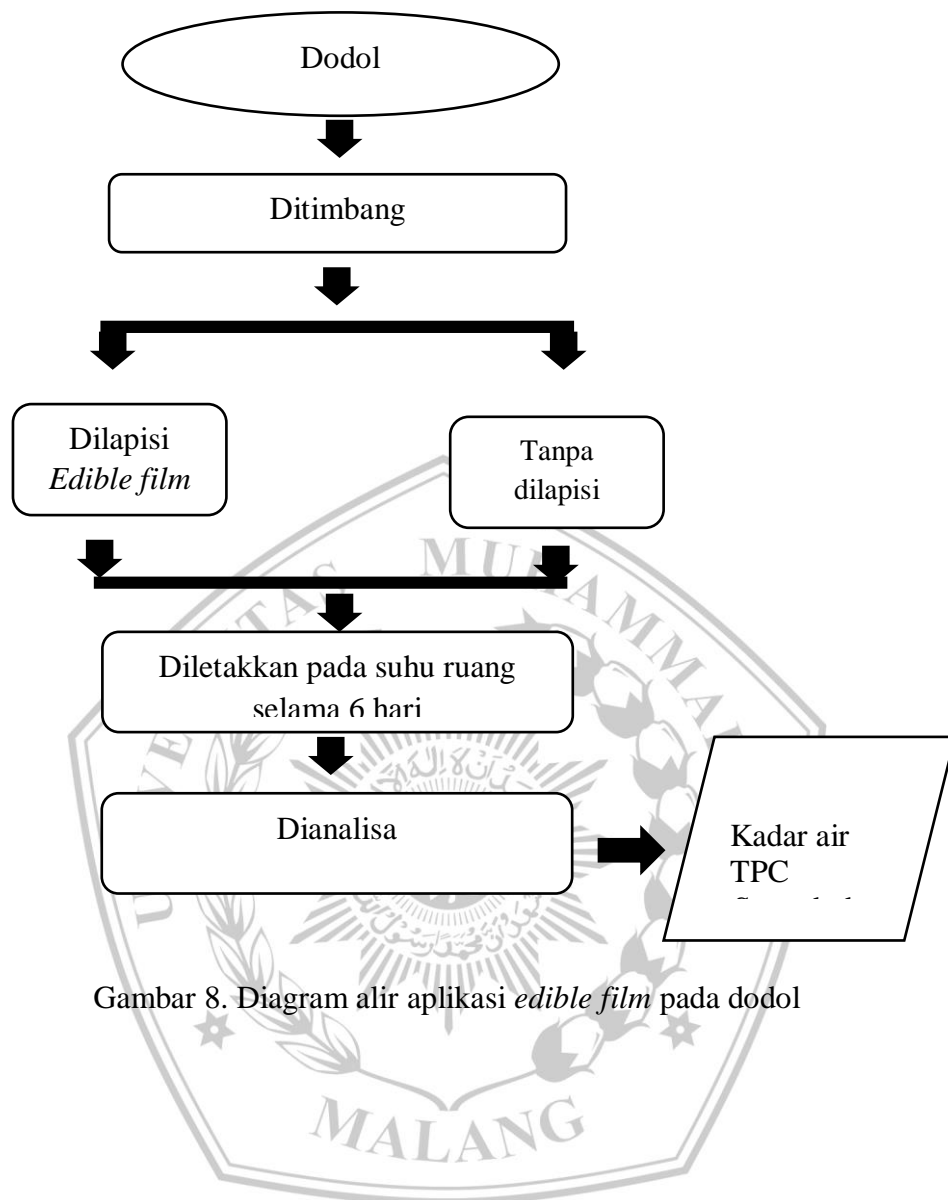
1. Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
2. Mensterilkan dengan menyemprot meja kerja dan tangan praktikan dengan alkohol 96%.
3. Melakukan pembungkusan cawan petri, tabung reaksi, pipet ukur dengan kertas buram, (tabung reaksi masing-masing diisi 9 mL akuades dan lubang ditutup kapas).
4. Membuat media Nutrient Agar (NA).
5. Mensterilkan peralatan yang telah dibungkus kertas buram pada autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C.
6. Mendinginkan alat dan bahan yang telah disterilisasi.
7. Melakukan pengenceran pada sampel, sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades yang telah steril (10-1) dilakukan secara aseptis, mengocoknya pada vortex.

8. Pengenceran setelahnya yaitu memipet 1 ml dari tabung reaksi 10^1 . Dimasukkan ke tabung reaksi pengenceran 10^2 , memvortex dan memipet 1 ml lagi dimasukkan ke tabung reaksi 10^3 dan dimasukkan ke cawan petri secara aseptis.
9. Cawan petri yang telah terisi media NA steril diisi 1 ml sampel dari pengenceran ke 3 dan di goyang-goyangkan hingga merata.
10. Memasukkan cawan petri kedalam incubator dengan posisi terbalik pada suhu $35-37^{\circ}\text{C}$ selama 24jam.
11. Mencatat pertumbuhan koloni pada masing-masing cawan yang mengandung 30-300 koloni dan melihat bentuknya dengan coloni counter.
12. TPC dihitung dengan persamaan: $\text{Pengeceran} \Sigma = \frac{\Sigma \text{ Mikroba}}{1/\text{pengenceran}}$

3.5.5.4 Susut Bobot (Sudarmadji dkk, 1996)

Perhitungan susut bobot dilakukan berdasarkan presentasi penurunan berat bahan sejak awal hingga akhir penyimpanan. Persamaan yang digunakan sebagai berikut:

$$\text{Susut bobot}(\%) = \frac{\text{Berat Awal} - \text{Berat Akhir}}{\text{Berat Awal}} \times 100\%$$



Gambar 8. Diagram alir aplikasi *edible film* pada dodol